

DAN DOKTORSKOG STUDIJA
BIOTEHNOLOGIJA I BIOPROCESNO
INŽENJERSTVO, PREHRAMBENA
TEHNOLOGIJA I NUTRICIONIZAM

KNJIGA SAŽETAKA

2019.



prehrambeno
biotehnološki
fakultet

Sveučilište
u Zagrebu

KNJIGA SAŽETAKA

DAN DOKTORSKOG STUDIJA

**BIOTEHNOLOGIJA I BIOPROCESNO
INŽENJERSTVO, PREHRAMBENA
TEHNOLOGIJA I NUTRICIONIZAM**

PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKOG FAKULTETA

SVEUČILIŠTA U ZAGREBU

15. veljače 2019.

Organizator:

Odbor za poslijediplomske studije PBF-a:

1. prof. dr. sc. Blaženka Kos
2. prof. dr. sc. Mara Banović
3. prof. dr. sc. Duška Ćurić
4. prof. dr. sc. Helga Medić
5. prof. dr. sc. Jagoda Šušković
6. prof. dr. sc. Nada Vahčić
7. izv. prof. dr. sc. Ivana Rumbak
8. Nenad Mardetko, mag. ing.
9. Marko Škegro, mag. ing.

1. PROGRAM

9.00 – 9.15 Registracija (ispred vijećnice PBF-a, prizemlje, Pierottijeva 6)

9.15 – 9.45 Otvaranje Dana doktorskog studija i pozdravne riječi

prof. dr. sc. Mirjana Hruškar, prorektorica za prostorni razvoj i sustav kontrole kvalitete Sveučilišta u Zagrebu

prof. dr. sc. Damir Ježek, dekan PBF-a Sveučilišta u Zagrebu

prof. dr. sc. Jadranka Frece, prodekanica za znanost PBF-a Sveučilišta u Zagrebu

9.45 – 10.00 Uvodno predavanje

prof. dr. sc. Tonči Rezić, PBF - [Kako biti uspješan doktorand?](#)

10.00 – 13.00 Usmena izlaganja doktoranada (I dio)

Moderatori: prof. dr. sc. Jagoda Šušković, prof. dr. sc. Blaženka Kos

1. **Katarina Butorac** - [Karakterizacija egzopolisaharida autohtonog probiotičkog soja *Lactobacillus fermentum* D12](#)
2. **Tamara Sorić** - [Metabolički sindrom i prehrambene navike u hospitaliziranih osoba oboljelih od shizofrenije: presječno istraživanje](#)
3. **Mateja Lozančić** - [Stanična stijenka biotehnoški zanimljivih kvasaca kao platforma za imobilizaciju rekombinantnih proteina](#)
4. **Marina Grubišić** - [Određivanje sastava masnih kiselina u mikroalgama iz Jadranskog mora](#)
5. **Marijana Ceilinger** - [Bioaktivni spojevi i antioksidacijski kapacitet u sušenoj rajčici](#)
6. **Lana Ljuma Skupnjak** - [Razvoj živog atenuiranog cjepiva protiv virusa zaraznog bronhitisa kokoši](#)
7. **Ana Novačić** - [Uloga nekodirajućih RNA u regulaciji transkripcije gena *PHO5* kvasca *Saccharomyces cerevisiae*](#)
8. **Sara Cobal** - [Prevenција pretilosti promjenom stavova, navika i znanja u djece školske dobi programom PETICA - igrom do zdravlja](#)
9. **Anđela Miljanović** - [Razvoj ekološki prihvatljivih metoda kontrole slatkovodnih patogenih mikroorganizama iz skupine *Oomycetes*](#)

10. **Maja Galić** - [Utjecaj nanočestica selena na rast i biokemijski sastav morske mikroalge *Dunaliella tertiolecta*](#)
11. **Dora Pavić** - [Utjecaj abiotskih i biotskih čimbenika na životni ciklus mikroorganizama iz skupine *Oomycetes*](#)
12. **Nenad Marđetko** – [Proizvodnja bioetanola na blago kiselim hidrolizatima pšenične slame](#)

13.00 – 13.30 Osvježenje – hladni buffet uz kavu i sokove

13.30 – 16.15 Usmena izlaganja doktoranada (II dio)

Moderatori: prof. dr. sc. Duška Ćurić, izv. prof. dr. sc. Ivana Rumbak

13. **Marijan Logarušić** - [Proteinski hidrolizati iz uljnih pogača konoplje i lana kao dodaci hranjivom mediju za uzgoj životinjskih stanica](#)
14. **Karla Hanousek Čiča** - [Karakterizacija polifenolnih i aroma spojeva *biske* - tradicionalne istarske travarice](#)
15. **mr. sc. Ljiljana Nanjara** - [Prehrambena vrijednost bezglutenskog kruha obogaćenog vlaknima](#)
16. **dr. sc. Višnja Stulić** - [Primjena visokonaponskoga električnoga pražnjenja na inaktivaciju mikroorganizama](#)
17. **Manuela Panić** - [Zelena otapala za zelene tehnologije](#)
18. **Slaven Jurić** - [Homogenizacija visokim tlakom kao metoda za ekstrakciju bioaktivnih spojeva iz otpada rajčice](#)
19. **Denis Vadjla** - [Metode određivanja potencijalnog antioksidativnog kapaciteta morskih i slatkovodnih mikroalgi](#)
20. **Saša Drakula** - [Razvoj bezglutenskog kruha poboljšane arome, povećane prehrambene vrijednosti i produljene trajnosti](#)
21. **Marko Marelja** - [Ultrazvukom potpomognuto vakuum sušenje u prehrambenoj industriji](#)
22. **Marko Škegro** – [Primjena visokog hidrostatskog tlaka za produljenje trajnosti sokova od voća i povrća](#)
23. **dr. sc. Bojan Žunar** - [Konstrukcija biotehnološki zanimljivih sojeva kvasca *Dekkera bruxellensis*](#)

16.15 – 16.30 Završna riječ voditeljica doktorskog studija i studijskih smjerova

prof. dr. sc. Blaženka Kos, prof. dr. sc. Jagoda Šušković, prof. dr. sc. Duška Ćurić, izv. prof. dr. sc. Ivana Rumbak

2. UVODNA RIJEČ

Veliko nam je zadovoljstvo što će doktorandi poslijediplomskog sveučilišnog (doktorskog) studija *Biotehnologija i bioprocesno inženjerstvo, prehrambena tehnologija i nutricionizam*, na Danu doktorskog studija Prehrambena-biotehnološkog fakulteta (PBF-a) Sveučilišta u Zagrebu, prezentirati i zajednički raspraviti rezultate dobivene tijekom izrade svojih doktorskih radova. Teme doktorata koje će biti predstavljene pripadaju znanstvenim poljima biotehnologije, prehrambene tehnologije, nutricionizma i interdisciplinarnih biotehničkih znanosti. Prvi poslijediplomski studij „Kemija i tehnologija antibiotika“ je organiziran još 1959. godine, u suradnji s tvrtkom PLIVA pri uspostavljanju biotehnološke proizvodnje oksitetraciklina. Tako, ove 2019. godine, obilježavamo 60 godina od osnivanja poslijediplomskog studija na PBF-u Sveučilišta u Zagrebu. Od tada do danas, na PBF-u su školovani brojni doktorandi koji su svojim aktivnostima učinili doktorski studij i PBF prepoznatljivim, kako na nacionalnoj, tako i na međunarodnoj razini.

Zahvaljujemo doktorandima na entuzijazmu pokazanom tijekom pripreme za sudjelovanje na ovom skupu. Nadamo se da će im Dan doktorskog studija Prehrambena-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu biti prigoda da u poticajnoj atmosferi konstruktivno razmijene stečena iskustva tijekom izrade svojih disertacija.

Želimo Vam uspješan rad!

Odbor za poslijediplomske studije PBF-a

UVODNO PREDAVANJE

Kako biti uspješan doktorand?

Prof. dr. sc. Tonči Rezić

Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilišta u Zagrebu

Sažetak: U predavanju će biti dan pregled pravilnika i publikacija vezanih uz doktorske studije na Sveučilištu u Zagrebu (Vodič kroz doktorske studije Sveučilišta u Zagrebu 2019./2020. Planer za uspješan doktorski studij, Vodič kroz doktorski studij na Sveučilištu u Zagrebu, Zajedno do doktorata - preporuke za mentore i doktorande, Salzburg II preporuke, Europska povelja za istraživače i Kodeks o novačenju istraživača, Osobne i stručne kompetencije doktoranada u Hrvatskoj – rezultati istraživanja provedenoga među doktorandima, Očekivanja i percepcije hrvatskih poslodavaca o doktorandima i njihovim kompetencijama – rezultati istraživanja provedenoga među hrvatskim poslodavcima, Smjernice za provedbu i daljnji razvoj stručnih i osobnih kompetencija doktoranada). Raspraviti će se i zadaća sveučilišnih doktorskih studija i obaveze doktoranda i mentora (članak 4., 29. i 30. Pravilnika o doktorskim studijima Sveučilišta u Zagrebu), te će biti prikazani zaključci i preporuke s Bolonjskog seminara o Doktorskim programima za europsko društvo znanja.

Ključne riječi: doktorski studiji, doktorandi, Sveučilište u Zagrebu

Karakterizacija egzopolisaharida autohtonog probiotičkog soja *Lactobacillus fermentum* D12

Katarina Butorac¹, Paola Cesutti², Barbara Bellich², Martina Banić¹, Andreja Leboš Pavunc¹,
Jasna Novak¹, Slaven Zjalić³, Jagoda Šušković¹, Blaženka Kos¹

¹ Laboratorij za tehnologiju antibiotika, enzima, probiotika i starter kultura, Zavod za biokemijsko inženjerstvo, Prehrambeno-biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Pierottijeva 6, Zagreb, Hrvatska (kzoric@pbf.hr)

² Odjel za prirodne znanosti Sveučilišta u Trstu, Via Licio Giorgieri 1 Ed. C11 – 34127 Trst, Italija

³ Odjel za ekologiju, agronomiju i akvakulturu Sveučilišta u Zadru, Trg Kneza Višeslava 9, 23000 Zadar, Hrvatska

Sažetak: Biosinteza egzopolisaharida (EPOL) detektirana je pomoću specifičnog „ropy“ fenotipa bakterijskih kolonija *Lactobacillus fermentum* D12, autohtone bakterije mliječne kiseline izolirane iz svježeg dimljenog sira, poraslih na MRS agar hranjivoj podlozi obogaćenoj ugljikohidratima. Probiotička starter kultura *Lb. fermentum* D12 je identificirana pristupom potpunog sekvencioniranja genoma, te je genomski sekvenca porhranjena u NCBI računalnoj bazi podataka pod GenBank pristupnim brojem RHMA00000000. Kako se biosinteza EPOL može potaknuti dodatkom ugljikohidrata u suvišku, soj *Lb. fermentum* D12 inokuliran je u MRS hranjive podloge uz dodatak slijedećih izvora ugljika: glukoza, galaktoza, laktoza, fruktoza i saharoza. Najveći prinos EPOL-a od 200,25 mg/mL, ostvaren je nakon uzgoja *Lb. fermentum* D12 u MRS hranjivoj podlozi uz dodatak glukoze kao induksijskog faktora, što potvrđuje da soj D12 učinkovit mikroorganizam producent EPOL-a. ¹H-NMR analiza je pokazala da odabir šećera dodanog u hranjivu podlogu ne utječe na konačnu kemijsku strukturu proizvedenog EPOL-a. Primjenom visokoučinkovite kromatografije HPSEC (eng. High Performance Size Exclusion Chromatography) ustanovljeno je da *Lb. fermentum* D12 proizvodi tri različita tipa EPOL-a koji se međusobno razlikuju u molekularnoj masi; jedan je molekularne mase 400 kDa, i dva niskih molekularnih masa od 2 kDa. ¹H-NMR, GC i GC-MS analiza pročišćenih EPOL-a pokazala je da soj *Lb. fermentum* D12 sintetizira jedan homopolisaharid, te dva različita heteropolisaharida. 2D-NMR analizom je ustanovljeno da je homopolisaharid molekularne mase od 400 kDa sastavljen od ponavljajućih jedinica α -1,4 vezane glukoze, pri čemu je 20 % molekula šećera acetilirano na C-3 atomu. Budući eksperimenti će biti usmjereni s ciljem karakterizacije primarne strukture EPOL-a nižih molekularnih masa i potencijalnoj funkcionalnoj ulozi pojedinih EPOL-a u probiotičkoj aktivnosti soja producenta *Lb. fermentum* D12, posebice u adheziji na humane intestinalne epitelne Caco-2 stanice, kompetitivnoj ekskluziji patogena i potencijalnom imunomodulacijskom učinku.

Ključne riječi: egzopolisaharid, *Lactobacillus*, probiotička aktivnost

Metabolički sindrom i prehrambene navike u hospitaliziranih osoba oboljelih od shizofrenije: presječno istraživanje

Tamara Sorić¹, Ivana Rumbak², Mladen Mavar¹

¹*Psijhijatrijska bolnica Ugljan, Otočkih dragovoljaca 42, 23275 Ugljan, Hrvatska*

²*Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Pierottijeva 6, 10000 Zagreb, Hrvatska*

SAŽETAK U novije vrijeme metabolički sindrom (MetS) sve je češći zdravstveni problem te je stoga u fokusu znanstvenih istraživanja. Niz različitih čimbenika utječe na njegovu pojavnost pa stvarna prevalencija, kao i razlog veće učestalosti među osobama oboljelima od shizofrenije, u odnosu na opću populaciju, još nisu u potpunosti utvrđeni. Saznanja o razlikama u prehrambenim navikama osoba oboljelih od shizofrenije s i bez MetS-a su ograničena, iako se loše prehrambene navike mogu smatrati jednim od glavnih uzročnika MetS-a. Cilj ovog istraživanja bio je odrediti prevalenciju MetS-a među hospitaliziranim osobama oboljelima od shizofrenije, provjeriti postoje li razlike u prehrambenim navikama ovisno o prisutnosti MetS-a te utvrditi korelacije između prehrambenih navika i komponenti MetS-a.

Presječnim istraživanjem obuhvaćeno je 259 hospitaliziranih osoba oboljelih od shizofrenije, dobi 18-67 godina. Istraživanje je provedeno prikupljanjem relevantnih podataka putem modificiranog Dlugosch & Krieger Upitnika o općem zdravstvenom ponašanju te antropometrijskih mjerenja, analize uzoraka krvi, mjerenja krvnog tlaka i određivanja udjela masnog tkiva. Za određivanje prisutnosti MetS-a korišten je Joint Interim Statement dijagnostički kriterij. Dobiveni rezultati analizirani su metodama deskriptivne i inferencijalne statistike. Povezanost između prehrambenih navika i komponenti MetS-a ispitala se korištenjem Spearmanovog koeficijenta korelacije.

Ukupna prevalencija MetS-a bila je 47,9%. Nisu utvrđene statistički značajne razlike između ispitanika s i bez MetS-a u pogledu ispitivanih socio-demografskih karakteristika i načina života. U pogledu prehrambenih navika, svakodnevni unos bijelog kruha zabilježen je u 80,3% ispitanika, a negaziranih bezalkoholnih napitaka u njih 42,8%. S druge strane, svega je 11,6% ispitanika svakodnevno unosilo voće, 32,0% povrće i 2,3% kruh od cjelovitog zrna. Ribu je rijetko konzumiralo 81,1% ispitanika, a njih čak 76,1% navelo je da nikada ne konzumira orašaste plodove. Prehrambene navike ispitanika s i bez MetS-a nisu se značajno razlikovale, dok je učestalost unosa određenih namirnica značajno korelirala s pojedinim komponentama MetS-a u obje ispitivane skupine. U ispitanika s MetS-om utvrđena je značajna pozitivna korelacija između unosa niskomasnog mlijeka i mliječnih proizvoda i HDL-kolesterola ($r=0,227$; $p=0,035$), crvenog mesa i sistoličkog krvnog tlaka ($r=0,193$; $p=0,045$), crvenog mesa i dijastoličkog krvnog tlaka ($r=0,188$; $p=0,042$) te polutvrđih sireva i opsega struka ($r=0,196$; $p=0,029$). Značajna pozitivna korelacija utvrđena je i između unosa grickalica i opsega struka ($r=0,173$; $p=0,025$) te slatkiša i triglicerida ($r=0,180$; $p=0,015$) u ispitanika bez MetS-a, dok je u istoj skupini unos kolača ($r=-0,252$; $p=0,016$), suhomesnatih proizvoda ($r=-0,188$; $p=0,022$) i tople čokolade/kakaa ($r=-0,270$; $p=0,006$) negativno korelirao s HDL-kolesterolom. Dobiveni rezultati ukazuju na potrebu ranog prepoznavanja osoba s povećanim rizikom za razvoj MetS-a te na važnost adekvatne nutritivne skrbi tijekom bolničkog liječenja osoba oboljelih od shizofrenije, a sve s ciljem smanjenja učestalosti MetS-a, poboljšanja prehrambenih navika, kao i poboljšanja ukupne kvalitete života. Potrebne su daljnje prospektivne studije kako bi se razjasnila veza između shizofrenije, prehrambenih navika i MetS-a.

Ključne riječi: shizofrenija, metabolički sindrom, prehrambene navike

Stanična stijenka biotehnoški zanimljivih kvasaca kao platforma za imobilizaciju rekombinantnih proteina

Mateja Lozančić¹, Renata Teparić¹, Vladimir Mrša¹

¹Laboratorij za biokemiju, Zavod za kemiju i biokemiju, Prehrambeno-biotehnoški fakultet

Sažetak: Sustavi za imobilizaciju rekombinantnih proteina na staničnoj stijenci kvasca temelje se na fuzioniranju željenog proteina s veznom regijom nekog od proteina koji se ugrađuju u stijenk u kovalentnom vezom. Iako su takvi sustavi za imobilizaciju proteina relativno razvijeni kod kvasca *Saccharomyces cerevisiae*, adekvatni sustavi kod većine drugih vrsta kvasaca nisu uspostavljeni, velikim dijelom zbog nedovoljne istraženosti proteina prisutnih u njihovoj stijenci. U svrhu analize proteina stijenske biotehnoški zanimljivih kvasaca, korištena je metoda biotinizacije koja omogućava specifično obilježavanje proteina stanične površine. Pri tome se, uz selektivnu ekstrakciju pojedinih skupina proteina stijenske temeljene na načinu njihova vezanja, dobivaju proteinski profili jedinstveni za pojedinu vrstu kvasaca¹. Uočene su značajne razlike između proteinskih profila kvasca *S. cerevisiae* i drugih vrsta kvasaca, poput *Blastobotrys adenivorans* i *Debaryomyces hansenii*, a koje bi mogle pridonijeti pronalasku novog domaćina za imobilizaciju proteina na staničnoj površini. Usporedno s ovim smjerom istraživanja, istražuju se i novi mogući sustavi za imobilizaciju rekombinantnih proteina na površini kvasca *S. cerevisiae*, pri čemu se kao obećavajući kandidat ističe protein Scw4. Dosadašnji rezultati analize proteina stijenske različitih kvasaca također pokazuju prisustvo ortologa ovog proteina u brojnim vrstama kvasaca, čime bi protein Scw4 mogao biti i dio novog, univerzalnog sustava za imobilizaciju kod većeg broja vrsta. Poznato je da se ovaj protein na staničnu stijenk u veže nekovalentno i kovalentno², no mehanizam kovalentnog vezanja, kao i vezna sekvenca, još uvijek nisu poznati. Jedan od ciljeva ovog dijela istraživanja je ustanoviti koji je dio njegove proteinske sekvence odgovoran za njegovu kovalentnu ugradnju u stijenk u, što je jedan od preduvjeta korištenja proteina Scw4 za imobilizaciju rekombinantnih proteina na staničnoj površini. Dosada dobiveni rezultati ukazuju da bi za vezanje proteina Scw4 mogla biti važna sekvenca koja nalikuje veznoj sekvenci proteina iz takozvane Pir skupine.

¹ Mrša i sur. *Yeast* 13, 12; 1145-1154 (1997)

² Teparić i sur. *Yeast* 24, 4 ; 259-266 (2007)

Ključne riječi: imobilizacija proteina, stanična stijenka, *Saccharomyces cerevisiae*, proteinski profili stijenki, protein Scw4

Određivanje sastava masnih kiselina u mikroalgama iz Jadranskog mora

Grubišić Marina^{a,b*}, Mirela Ivančić Šantek, Božidar Šantek

^aLaboratorij za biokemijsko inženjerstvo, industrijsku mikrobiologiju i tehnologiju piva i slada; Zavod za biokemijsko inženjerstvo; Prehrambeno-biotehnološki fakultet; Sveučilište u Zagrebu (mgrubisic@pbf.hr)

^bBioProCro Centar izvrsnosti za BioProspekting mora, Zagreb

Sažetak: Zbog svoje velike biološke raznolikosti Jadransko more izvor je za pronalazak novih vrsta makro i mikroorganizama s značajnim biotehnološkim potencijalom. Među ciljanim organizmima ističu se mikroalge koje su prepoznate kao dobra sirovina za proizvodnju hrane, biogoriva, ali i visoko vrijednih proizvoda kao što su nezasićene masne kiseline, minerali, vitamini, bioaktivni peptidi i pigmenti. Među morskim mikroalgama ističu se vrste koje pripadaju razredu *Bacillariophyceae*, odnosno dijatomeje. Zbog svog profila masnih kiselina bogatog na srednje dugim masnim kiselinama ističe se njihova moguća primjena u proizvodnji biogoriva. Osim toga kod većine dijatomeja prisutan je značajan udio eicosapentaenoične (EPA; 20:5n-3) i arahidonske (ARA; 20:4n-6) kiseline, visokovrijednih nezasićenih masnih kiselina primjenjivih u farmaceutskoj i prehrambenoj industriji. Tijekom dosadašnjeg istraživanja istražen je potencijal četiri vrste dijatomeja izoliranih iz Jadranskog mora za proizvodnju lipida te je određen njihov profil masnih kiselina. Izolacija mikroalgalnih vrsta iz uzoraka morske vode prikupljene u okolici Šibenika provedena je metodama serijskog razrjeđivanja, precjepljivanja metodom iscrpljivanja uz primjenu antibiotika i fizičkih metoda razdvajanja ultrazvukom i vorteksiranjem. Potom je istražen potencijal izoliranih dijatomeja za proizvodnju lipida u fototrofnim uvjetima uzgoja, a daljnjim uzgojima izolirane dijatomeje *Navicula sp.* određen je utjecaj različitih koncentracija dušika na proizvodnju lipida u miksotrofnim uvjetima. Istražene su tri koncentracije dušika: 8,82 mM kao u originalnoj f/2 podlozi, 4,42 mM za limitaciju izvorom dušika te 17,64 mM za suvišak izvora dušika. U fototrofnim uvjetima udio lipida varirao je ovisno o vrsti izoliranih dijatomeja te je iznosio od 24% do 63% suhe tvari biomase. Analizom sastava masnih kiselina određeno je kako najveći udio čine masne kiseline C14:0 (11%-21%), C16:0 (30%-42%) i C16:1 cis 9 (13%-43%), a zabilježen je i značajan udio masnih kiselina EPA (3,5-8,12%) i ARA (1,44%-8,03%). Iako je profil masnih kiselina ostao sličan, promjena koncentracije dušika utjecala je na udio zasićenih i nezasićenih masnih kiselina u lipidima dijatomeje *Navicula sp.* Tako je limitacija dušikom rezultirala porastom zasićenih masnih kiselina sa 41,59% (originalna f/2 podloga) na 47,56%, dok je kod suviška izvora dušika zabilježeno smanjenje udjela na 34,77%. Posljedično tome, uvjeti suviška izvora dušika pogodovali su nakupljanju nezasićenih masnih kiselina s postignutim udjelom od 65,54% te povećanju udjela masnih kiselina EPA sa 5,42% na 8,24% i ARA sa 2,45% na 3,75% u usporedbi s originalnom podlogom. Uvjeti limitacije dušikom rezultirali su smanjenjem udjela tih masnih kiselina koji je iznosio 2,58% za EPA i svega 0,4% za ARA masnu kiselinu, a ukupni udio nezasićenih masnih kiselina iznosio je 52,44%.

Podržano od BioProCro Centra izvrsnosti za Bioprospekting mora i projekta BioProspekting Jadranskog mora financiranog od strane Hrvatske Vlade i Europske unije putem Europskih strukturnih i investicijskih fondova te Europskog fonda za regionalni razvoj kroz Operativni program Konkurentnost i kohezija 2014. – 2020.

Ključne riječi: mikroalge, Jadransko more, lipidi, dijatomeje

Bioaktivni spojevi i antioksidacijski kapacitet u sušenoj rajčici

Marijana Ceilinger¹, Zoran Zorić², Ivona Elez Garofulić², Sunčica Čoklica³, Valerija Bukvić³,
Jasmina Ranilović³, Verica Dragović-Uzelac²

¹*Belupo lijekovi i kozmetikad.d., Koprivnica*

²*Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb*

³*Podravka d.d., Istraživanje i razvoj, Koprivnica*

Sažetak: Rajčica je sirovina koja je bogat izvor bioaktivnih molekula kojima se pripisuju brojni zdravstveni benefiti. Jednu od značajnijih skupina bioaktivnih molekula rajčice čine karotenoidi među kojima se ističu likopen i beta-karoten. Rajčica, osim što se konzumira u svježem stanju, se prerađuje u različite vrste proizvoda (pasirana rajčica, koncentrat rajčice, pelati, sjeckana rajčica, ketchup, sokovi, umaci i sl.), a sušena rajčica može predstavljati jedan od interesantnih tzv. “healthy snack” proizvoda koji su sve više prihvaćeni od sve većeg broja potrošača. Stoga će u ovom radu biti prikazan dio rezultata istraživanja o utjecaju primijenjenih postupaka sušenja (konvencionalni i liofilizacija) na stabilnost i zadržavanje bioaktivnih molekula (fenoli, karotenoidi, vitamini) te na antioksidacijski kapacitet u dvije sorte rajčice (Perfect Peel i Volovsko srce), a u cilju razvoja novih, nutritivno bogatih proizvoda na bazi lokalno uzgojenih sirovina. U svježim i osušenim uzorcima provedeno je određivanje ukupnih fenola i ukupnih karotenoida spektrofotometrijski, dok su pojedinačni fenolni spojevi i karotenoidi, te vitamin C određivani primjenom visokodjelotvorne tekućinske kromatografije uz UV/VIS DAD detekciju. Antioksidacijski kapacitet određen je DPPH metodom. Provedeno istraživanje predstavlja značajan doprinos u razvoju nutritivno vrijednih proizvoda bogatih bioaktivnim molekulama, baziranih na primjeni domaćih i lokalno ugojenih sorata.

Ključne riječi: sušena rajčica, fenolni spojevi, karotenoidi, vitamin C, antioksidacijski kapacitet

Razvoj živog atenuiranog cjepiva protiv virusa zaraznog bronhitisa kokoši

Lana Ljuma Skupnjak¹; Katarina Huić Babić¹; dr.sc., Anto Vrdoljak¹, dr.sc.

¹*Genera d.d. (dio Dechra Pharmaceuticals grupe), Svetonedeljska cesta 2, 10436 Rakov potok*

Sažetak: Virus zaraznog bronhitisa (ZB) kokoši jedan je od najučestalijih uzročnika bolesti u komercijalno uzgajane peradi. Osim bolesti respiratornog sustava, često uzrokuje i oštećenja bubrega a kod pilenki i jajovoda. Zarazni bronhitis utječe na prinos kod tovnih pilića te na smanjenu proizvodnju i kvalitetu jaja kod nesilica. Jedna od najučinkovitijih mjera suzbijanja bolesti, osim biosigurnosti, je cijepljenje živim atenuiranim cjepivima protiv ZB. Iako su živa cjepiva protiv virusa ZB dostupna na tržištu preko 50 godina, učestalo se pojavljuju novi varijantni sojevi virusa ZB na koje postojeća cjepiva ne djeluju. U našem laboratoriju atenuirali smo divlji soj virusa ZB, varijantnog tipa. Atenuaciju smo proveli klasičnom metodom uzastopnih pasaža u SPF jajima.

S obzirom da se radi o virusu koji često mutira, tijekom atenuacije praćena je sekvenca varijabilnog dijela S1 gena. Osim toga, svakih desetak pasaža ispitivana je neškodljivost potencijalnog cjepnog soja na pilićima. Kao parametri zaštite procjenjivana je cilijarna aktivnost trahealnih prstena i bubrega (prema europskoj farmakopeji) te je određivan titar antitijela u serumu i suzama pilića pomoću ELISA-e i virus neutralizacijskog testa.

Nakon 63 pasaže u jajima, zbog velikog broja subpopulacija virusa ZB koji je bio prisutan, proveli smo purifikaciju kroz 3 uzastopne plak purifikacije na stanicama pilećih bubrega (CEK= engl. chicken embryo kidney cells). U suradnji sa vanjskom ustanovom, proveli smo sekvenciranje nove generacije (NGS) cijelog genoma početnog divljeg soja virusa kojeg smo koristili za atenuaciju, zatim 63. pasaže virusa i plak purificiranog virusa.

Ispitivanjem učinkovitosti u pilića pokazalo se da je nepročišćena pasaža 63 imala značajno bolju učinkovitost u usporedbi sa purificiranim virusom. Daljnja ispitivanja biti će usmjerena razvoju cjepiva od pasaže 63 ili niže, te razvoju metoda za mjerenje humoralne i stanične imunosti kod pilića.

Ključne riječi: virus zaraznog bronhitisa, cjepivo, atenuacija, sekvenciranje nove generacije

Uloga nekodirajućih RNA u regulaciji transkripcije gena *PHO5* kvasca *Saccharomyces cerevisiae*

Ana Novačić¹, Igor Stuparević¹

¹Laboratorij za biokemiju, Zavod za kemiju i biokemiju, Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Sažetak: Nekodirajuće RNA molekule predstavljaju klasu transkripata koji ne nose informaciju za sintezu proteina. U stanicama eukariota nekodirajuće RNA imaju različite regulatorne uloge u procesu ekspresije gena, no njihova je detekcija otežana budući da su u pravilu relativno kratkoživuće. Cilj moga rada je istražiti ulogu nekodirajućih RNA u regulaciji transkripcije kvaševog gena *PHO5*, koji je jedan od najbolje istraženih primjera ekstenzivne regulacije transkripcije u kvascu¹. U ovim istraživanjima korištene su stanice mutanta *rrp6* u kojima je inaktivacijom ribonukleaze Rrp6 spriječena brza degradacija nekodirajućih transkripata, odnosno postignuta je njihova stabilizacija. Utvrđeno je da u stanicama mutanta *rrp6* dolazi do usporene kinetike remodeliranja kromatina promotora *PHO5* i time posljedično aktivacije transkripcije gena *PHO5*, što upućuje na negativno djelovanje nekodirajućih RNA u tom procesu. Nadalje, potvrđeno je da pokazani učinak nije indirektna posljedica negativnog učinka na prijenos aktivacijskog signala u stanicama mutanta. Također je pokazano da zamjena ORF-a *PHO5* drugim ORF-om vraća kinetiku aktivacije transkripcije s promotora *PHO5* u stanicama mutanta *rrp6* na onu postignutu u stanicama divljeg tipa. Glavni kandidat za nekodirajući transkript putem kojeg se regulira transkripcija gena *PHO5* stoga je transkript *CUT025*, koji se transkribira od 3' kraja ORF-a *PHO5* do regije uzvodno od promotora *PHO5*². Cilj budućih eksperimenata je otkrivanje molekularnog mehanizma putem kojeg nekodirajuće RNA reguliraju transkripciju gena *PHO5*, što će dati značajan doprinos razumijevanju kompleksnog procesa regulacije transkripcije kod eukariota.

1. Korber i Barbarić. NAR. 42:17, 10888-10902. (2014)

2. Uhler i sur. PNAS. 104:19, 8011-8016. (2007)

Ključne riječi: transkripcija, nekodirajuće RNA, kromatin, kvasac *Saccharomyces cerevisiae*, gen *PHO5*

Prevenција pretilosti promjenom stavova, navika i znanja u djece školske dobi programom PETICA-igrom do zdravlja

Sara Cobal¹, prof. dr. sc. Željko Krznarić^{1,2,3}, prof. dr. sc. Darija Vranešić Bender^{1,2}

¹ Hrvatski liječnički zbor, Šubićeva 9, 10 000 Zagreb

² KBC Zagreb, Kišpatićeva ul. 12, 10 000 Zagreb

³ Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Šalata ul. 3, 10 000 Zagreb

Sažetak: Hrvatska se nalazi na sedmom mjestu u Europi po prekomjernoj tjelesnoj masi i pretilosti u djece od 7 do 11 godina (Currie i sur., 2012). Nadalje, zabrinjavajući statistički podaci potvrđuju kako 33% dječaka i 20% djevojčica ima prekomjernu tjelesnu masu ili je pretilo u Hrvatskoj (Šimetin, Mayer, Musić Milanović, 2016). Pojašnjenje loših brojki dala su i brojna istraživanja koja potvrđuju kako loše životne navike djece imaju posljedice po zdravlje, ne samo u djetinjstvu nego i u odrasloj dobi, utječući na razvoj nezaraznih kroničnih bolesti u budućnosti. Također, istraživanja opetovano potvrđuju kako programi prevencije pretilosti moraju biti osmišljen na način da potiču važnost promjene stavova, znanja i navika povezanih uz prehranbene navike, ali i obaveznog povećanja tjelesne aktivnosti edukacijom i ciljanim porukama kojima ispitanici trebaju biti izloženi u školi i vlastitom domu.

PETICA- igrom do zdravlja je program koji se provodi od školske godine 2014./2015. u nižim razredima osnovnih škola Grada Zagreba te je tijekom godina uključeno preko 5500 dionika.

Tijekom tog razdoblja provedena je intervencija u kojoj je sudjelovalo preko 1500 učenika u dobi od 8 do 10 godina u 16 škola. Mjerene su promjene stavova, navika i znanja učenika s ciljem stvaranja zdravijih životnih navika – redovitog unosa prvog jutarnjeg obroka, adekvatne količine tekućine, voća i povrća te vježbanjem barem 60 minuta dnevno pri čemu je stavljen naglasak i na važnost svakodnevne adekvatne količine sna. Roditeljima je predstavljen program prethodno provedenoj intervenciji te je dobivena suglasnost za sudjelovanje učenika u istom. Po dobivenim suglasnostima, učenici su uključeni u program te je provedena evaluacija prije početka edukacije učenika te po završetku provedbe edukacije krajem svake školske godine evaluacijskim upitnicima. Edukacija je temeljena na važnosti pravilne prehrane i tjelesne aktivnosti u svakodnevnom životu, a znanje o navedenom se povećavalo tijekom godina sudjelovanja u programu. Također, provedena su antropometrijska mjerenja kojim su praćene promjene u tjelesnoj masi učenika u razdoblju od tri godine. Statističkom obradom uočene su promjene znanja i navika učenika. Nadalje, uočeno je kako učenici koji redovito unose tekućinu i češće vježbaju imaju manju tjelesnu masu dok učenici koji ne doručkuju redovito imaju veću tjelesnu masu. Roditelji učenika sudionika programa su također sudjelovali u intervenciji edukacijom o pravilnoj prehrani i važnosti tjelesne aktivnosti u svakodnevnom životu u razdoblju od dvije godine te su također ispunjavali evaluacijske upitnike, no njihovi rezultati neće biti predmet ovog rada.

Zaključno, tijekom tri godine provedbe projekta statistički podaci pokazali su uspješnost programa promjenama stavova, znanja i navika učenika sudionika u PETICA-igrom do zdravlja, no važno je istaknuti kako je prevencija kroničnih nezaraznih bolesti dugotrajan proces u kojem su rezultati vidljivi nakon osam do deset godina aktivne provedbe radi čega je važno kontinuirano djelovati ciljanim preventivnim programima.

Ključne riječi: tjelesna masa, pretilost, djeca školske dobi, PETICA-igrom do zdravlja, edukacija, pravilna prehrana, tjelesna aktivnost

Razvoj ekološki prihvaljivih metoda kontrole slatkovodnih patogenih mikroorganizama iz skupine *Oomycetes*

Andeła Miljanović^{1,2}, Ana Bielen¹, Maja Dent²

¹Laboratorij za biologiju i genetiku mikroorganizama, Zavod za biokemijsko inženjerstvo, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

²Laboratorij za analitičku kemiju, Zavod za kemiju i biokemiju, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

Sažetak: Mikroorganizmi iz skupine *Oomycetes*, poznatiji kao „vodene plijesni“, uzročnici su bolesti mnogih slatkovodnih organizama te uzrokuju značajne štete u akvakulturi. Postojeće metode suzbijanja ovih patogena uključuju korištenje kemikalija štetnih za čovjeka i okoliš, stoga ću se u okviru svog doktorskog rada baviti razvojem ekološki prihvaljivih metoda njihove kontrole. Kao modelne organizme koristit ću oomicete iz roda *Saprolegnia*, uzročnike saprolegnioze - bolesti pastrve i drugih salmonidnih riba, te vrstu *Aphanomyces astaci*, uzročnika smrtonosne bolesti slatkovodnih deseteronožnih rakova.

Prvi cilj mog doktorskog rada je istražiti da li odabrani biljni ekstrakti imaju sposobnost inhibicije rasta micelija i/ili inhibicije sporulacije modelnih oomiceta. U tu ću svrhu, koristeći ekološki prihvatljive načine ekstrakcije, pripremiti ekstrakte mediteranskog samoniklog bilja te analizirati njihov sastav spektrofotometrijski, tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (HPLC), plinsko kromatografsko masenom spektrometrijom (GC-MS) i nuklearnom magnetskom rezonancijom (NMR). Potom ću ispitati njihov inhibicijski potencijal prema modelnim oomicetima *in vitro* i *in vivo*. U drugom dijelu doktorskog rada istražiti ću mogućnost biokontrole patogenih oomiceta uz pomoć komenzalnih nepatogenih mikroorganizama prirodno prisutnih na/u domaćinu. Selekcionirati ću, izolirati i molekularno karakterizirati sakupljene bakterijske izolate te testirati njihovu potencijalnu inhibicijsku aktivnost prema patogenim oomicetima.

Rezultati ovog istraživanja biti će temelj za razvoj modernih metoda kontrole bolesti uzrokovanih oomicetima u slatkovodnoj akvakulturi.

Ključne riječi: *Saprolegnia*, *Aphanomyces astaci*, biljni ekstrakti, inhibicija patogena

Utjecaj nanočestica selena na rast i biokemijski sastav morske mikroalge *Dunaliella tertiolecta*

Maja Galić¹

¹Laboratorij za biotehnologiju u akvakulturi, Institut Ruđer Bošković, Bijenička cesta 54, Zagreb, Hrvatska

Sažetak: Selen je kemijski element u tragovima koji ovisno o koncentraciji može predstavljati esencijalni mikronutritijent ili toksičnu komponentu te imati značajne pozitivne ili negativne učinke. Istraživanja nanočestica selena, kao mogućeg izvora selena, nedavno su započeta te su od velike važnosti zahvaljujući niskoj toksičnosti u usporedbi sa natrijevim selenitom (Na_2SeO_3). Visoke koncentracije nanočestica selena mogu imati negativne utjecaje na procese u algama dok niže koncentracije mogu stimulatивно djelovati na prirast biomase algi i udio fotosintetskih pigmenata. S ciljem utvrđivanja sigurnosti uporabe u kozmetici, prehrambenoj i farmaceutskoj industriji najprije je ispitan utjecaj nanočestica selena na rast morske mikroalge *Dunaliella tertiolecta* u usporedbi sa utjecajem anorganskog izvora selena, natrijevog selenita. Osim toga, cilj ovog rada bio je istražiti utjecaj širokog raspona koncentracija nanočestica selena na prirast biomase, sadržaj fotosintetskih pigmenata, udio lipida i proteina te sastav aminokiselina i masnih kiselina mikroalge *Dunaliella tertiolecta*. Uzgoj mikroalge *Dunaliella tertiolecta* pri nižim koncentracijama nanočestica selena rezultira značajnim prirastom biomase i udjelom fotosintetskih pigmenata. Između rezultata udjela ukupnih proteina u svim analiziranim uzorcima nema značajnih razlika. Sastav masnih kiselina determiniran je plinskom kromatografijom te je u svim analiziranim uzorcima zabilježen veći udio nezasićenih masnih kiselina. S obzirom na porast primjene nanočestica u brojim područjima istraživanja navedeni rezultati pridonose boljem razumijevanju utjecaja nanočestica selena na rast i sastav zelenih mikroalgi te potencijalnoj biotehnološkoj primjeni.

Ključne riječi: *Dunaliella tertiolecta*, nanočestice selena, natrijev selenit, inhibicija rasta

Utjecaj abiotskih i biotskih čimbenika na životni ciklus mikroorganizama iz skupine *Oomycetes*

Dora Pavić¹, Ana Bielen¹

¹Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zavod za biokemijsko inženjerstvo, Pierottijeva 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Sažetak: Patogeni iz skupine *Oomycetes* ('vodene plijesni') uzrokuju bolesti kod slatkovodnih organizama i značajne štete u slatkovodnoj akvakulturi. Među najpoznatijim predstavnicima su mikroorganizmi *Aphanomyces astaci*, patogen slatkovodnih desetonožnih rakova, i *Saprolegnia parasitica*, uzročnik saprolegnioze kod pastrva i drugih salmonidnih riba. Postojeća istraživanja ovih patogena fokusirana su na odnos domaćina i uzročnika bolesti, dok su ostali čimbenici koji su značajni za distribuciju patogena i proces infekcije uglavnom neistraženi. Stoga ću u okviru svog doktorskog rada istražiti utjecaj abiotskih (sastav vode) i biotskih (sastav mikrobnih zajednica) čimbenika na različite faze životnog ciklusa odabranih oomiceta.

U Hrvatskoj ne postoje znanstvena istraživanja distribucije vrsta iz roda *Saprolegnia*, stoga će prvi cilj ovog doktorskog rada biti uzgojiti i analizirati izolate oomicetnih patogena u ribnjacima pastrve u Hrvatskoj. Nadalje, sakupit će se uzorci prirodnih voda te će im se odrediti fizikalno-kemijske karakteristike i sastav bakterijskih zajednica metagenomskim pristupom. U sljedećem će se koraku istražiti kako sastav vode utječe na uspješnost sporulacije oomicetnih patogena *A. astaci* i *Saprolegnia* sp. U drugom dijelu doktorskog rada usporedit će se bakterijske zajednice zdravih domaćina s bakterijskim zajednicama domaćina inficiranih oomicetima *A. astaci* i *Saprolegnia* sp. Cilj ovih pokusa je pretpostaviti koje bi bakterijske skupine mogle imati anti-oomicetnu aktivnost.

Zaključno, na temelju dobivenih rezultata moći će se predvidjeti 'vruće točke' slatkovodnih ekosustava koji imaju povećani rizik od izbijanja/širenja bolesti uzrokovanih oomicetima, ali i predložiti ekološke metode kontrole oomicetnih bolesti.

Ključne riječi: oomicete, *Aphanomyces astaci*, *Saprolegnia parasitica*, akvakultura, slatkovodni rakovi, pastrve

Proizvodnja bioetanola na blago kiselim hidrolizatima pšenične slame

Nenad Marđetko¹, Mario Novak¹, Antonija Trontel¹, Marina Grubišić¹, Božidar Šantek¹

¹Zavod za biokemijsko inženjerstvo, Laboratorij za biokemijsko inženjerstvo, industrijsku mikrobiologiju i tehnologiju slada i piva, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Pierottijeva 6, 10000 Zagreb

Sažetak: Pojam lignoceluloznih materijala ili lignocelulozne biomase odnosi se na biljnu biomasu koja može potjecati iz više različitih izvora, kao što su poljoprivredni ostaci (pšenična slama, kukuruzovina, kukuruzni oklasci itd), šumski i drvni te otpad prehrambene industrije. Lignoceluloza čini oko 60% proizvedene biomase biljaka na Zemlji, a mogućnosti biotehnoške primjene lignoceluloznih sirovina su brojne. Može postati temelj održive proizvodnje opravdane s ekološkog, ali i s ekonomskog stajališta. U današnje vrijeme lignocelulozne sirovine koriste se za proizvodnju specifičnih biokemikalija i biogoriva. No da bi mogli koristiti lignocelulozu u navedenim procesima potrebno ju je prethodno obraditi, primjerice koristeći kiseline hidrolizirati celulozu i hemicelulozu do fermentabilnih šećera. U ovom će radu biti prikazani rezultati predtretmana pšenične slame s 0,5% H₂SO₄ u visokotlačnom reaktoru pri različitim temperaturama (160-200°C) i vremenima zadržavanja. (1-10 min) u svrhu dobivanja fermentabilnih šećera. Prilikom predtretmana nastaju tekuća i kruta faza. Tekuća faza uglavnom sadržava ksilozu i glukozu, koji se mogu koristiti u procesu proizvodnje bioetanola kao izvori ugljika. U procesu proizvodnje bioetanola, kao radni mikroorganizmi korišteni su genetički modificirani kvasac *Saccharomyces cerevisiae*, koji može metabolizirati ksilozu, te plijesan *Mucor indicus*. Fermentacije su provedene u Erlenmeyerovim tikvicama na neutraliziranom tekućem hidrolizatu pšenične slame u aerobnim i anaerobnim uvjetima. Efikasnost fermentacija pomoću kvasca bile su u rasponu od 19,6% do 43,14%, dok su efikasnosti procesa proizvodnje bioetanola pomoću plijesni bile u rasponu od 41,9% do 77,2%.

Ključne riječi: lignocelulozne sirovine, pšenična slama, bioetanol, *Saccharomyces cerevisiae*, *Mucor indicus*

Proteinski hidrolizati iz uljnih pogača konoplje i lana kao dodaci hranjivom mediju za uzgoj životinjskih stanica

Marijan Logarušić¹, Igor Slivac¹, Kristina Radošević¹, Andreja Leboš Pavunc¹, Višnja Gaurina Srček¹, Beata Halassy², Tihana Kurtović²

¹ Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Pierottijeva 6, 10000 Zagreb

² Sveučilište u Zagrebu, Imunološki institut, Rockefellerova 2, 10000 Zagreb

Sažetak: Nutritivni sastav medija jedan je od najbitnijih faktora u kulturi životinjskih stanica. Sastav proteina jednako kao i njihovo podrijetlo imaju ključnu ulogu u pripremi staničnog medija. Fetalni goveđi serum (FBS) se i dalje u velikoj mjeri koristi kao glavni izvor proteina unatoč svojem neujednačenom sastavu te rizicima prijenosa virusa, priona i mikoplazmi te otežanoj izolaciji proizvoda. Kako bi savladali ove nedostatke, znanstvenici iz područja tehnologije životinjskih stanica, razvili su serum-free medij gdje proteinski hidrolizati, ponajprije biljnog podrijetla, mogu djelomično zamijeniti peptide iz seruma. Među tvarima koje imaju veliki potencijal za proizvodnju hidrolizata su proteinima bogati nusprodukti dobiveni u industriji proizvodnje jestivog ulja, tzv. uljne pogače. Uljne pogače konoplje i lana sadrže oko 30% proteina i kao takve nisu zanemariv izvor proteina koji se kao nadomjestak seruma može koristiti u medijima za uzgoj životinjskih stanica. Glavni cilj ovog istraživanja je odrediti utjecaj proteinskih izolata uljne pogače lana te proteinskih hidrolizata i peptidnih frakcija uljne pogače konoplje na rast i produktivnost CHO DP-12 stanica koje stabilno proizvode rekombinantno monoklonsko protutijelo IgG.

Proteinski izolati su pripremljeni iz uljnih pogača konoplje i lana procesom izolacije nizom ekstrakcijskih postupaka. Hidroliza proteinskih izolata je provedena s komercijalnim mikrobnim proteazama: *Alcalasa* i *Protamex*. Nastali peptidi su razdvojeni u tri frakcije različitih molekularnih masa (50 kDa, 10kDa i 3kDa). Stanice su uzgajane u DMEM mediju s FBS-om koji je djelomično zamijenjen s ukupnim proteinskim hidrolizatom (T) ili s peptidnim frakcijama hidrolizata (F) (9% FBS + 1% T/F, 5% FBS + 5% T/F). Sadržaj proteina u hranjivom mediju je određen pomoću SDS-PAGE i kolorimetrijskih tehnika. Rast CHO stanične linije praćen je uz pomoć hemocitometra, a proizvodnja rekombinantnog IgG uz pomoć imunokemijskih metoda.

Preliminarni rezultati upućuju na to da proteinski hidrolizati dobiveni iz uljnih pogača ne mogu u potpunosti zamijeniti serum u hranjivom mediju, ali pokazuju da ga mogu u određenom udjelu nadomjestiti. Proteinski hidrolizati iz konoplje (T i F) dobiveni djelovanjem *Alcalase* i *Protamexa* imaju pozitivan učinak na specifičnu produktivnosti i volumetrijsku proizvodnju u odnosu na kontrolu. Općenito, zamjenom seruma s većim postotkom svih peptidnih frakcija (5%) uočen je veći utjecaj na volumetrijsku proizvodnju. Proteinski hidrolizati dobiveni djelovanjem enzima *Protamex* pokazali su bolju staničnu vijabilnost u odnosu na proteinske hidrolizate dobivene *Alcalasom*. Dodatak 0,2 g/L proteinskog izolata lana u hranjivi medij s 5% seruma pokazao je pozitivniji učinak na stanični rast i produktivnost u usporedbi s kontrolom i drugim uvjetima.

Ključne riječi: uljna pogača konoplje i lana, proteinski izolati, proteinski hidrolizati, kultura životinjskih stanica, rekombinantni protein

Karakterizacija polifenolnih i aroma spojeva *biske* - tradicionalne istarske travarice

Karla Hanousek Čiča^{1*}, Jasna Mrvčić¹, Damir Stanzer¹

¹Laboratorij za tehnologiju vrenja i kvasca, Zavod za prehrambenu-tehnološko inženjerstvo, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu (khanousekcica@pbf.hr)

Sažetak: *Biska* je tradicionalna istarska travarica koji se proizvodi postupkom maceracije lišća i grančica bijele imele (*Viscum album*) u vodeno-alkoholnoj bazi. Tijekom maceracije u vodeno-alkoholnu bazu iz imele se ekstrahiraju različiti spojevi koji *biski* daju karakterističnu aromu, boju i okus te biološki aktivni spojevi koji su nosioci funkcionalnih svojstava *biske*. Cilj preliminarnih ispitivanja bio je istražiti polifenolni sastav i antioksidativnu aktivnost te odrediti aroma spojeve u 14 uzoraka *biske* (5 industrijskih i 9 proizvedenih na obiteljskim poljoprivrednim gospodarstvima). Polifenolni sastav uzoraka *biske* određen je tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (HPLC) te spektrofotometrijski pomoću Folin-Ciocalteu reagensa, a antioksidativna aktivnost FRAP i DPPH metodom. Aroma spojevi određeni su plinskom kromatografijom s masenom detekcijom uz prethodnu mikroekstrakciju na čvrstoj fazi (SPME). Rezultati su pokazali da se količina polifenolnih spojeva u uzorcima znatno razlikuje. Na različit sadržaj polifenolnih spojeva u uzorcima *biske* utječe količina, podrijetlo i kvaliteta imele koja se macerira, različita jakost alkoholne baze, temperatura na kojoj se provodi maceracija te dodatak šećera ili meda tijekom maceracije. HPLC analizom je utvrđeno da su najzastupljeniji polifenolni spojevi u uzorcima *biske* protokatehinska kiselina i derivati flavonola. Nadalje, prosječni sadržaj ukupnih polifenola u *biski* iznosio je 196 ± 15 mg GAE L⁻¹, te je u pozitivnoj korelaciji s antioksidativnom aktivnosti, što upućuje na činjenicu da prisutnost polifenolnih spojeva značajno doprinosi i antioksidativnoj aktivnosti uzoraka *biske*. Najveći sadržaj polifenola u uzorku *biske* iznosio je 545 mg GAE L⁻¹. U uzorcima *biske* ukupno je detektirano 166 aroma spojeva od kojih su najzastupljeniji etilni esteri srednjelančanih i dugolančanih masnih kiselina, viši alkoholi, izopropil miristat, aldehid dekanal i pojedini terpeni.

Ključne riječi: antioksidativna aktivnost, aroma spojevi, *biska*, maceracija, polifenoli,

Prehrambena vrijednost bezglutenskog kruha obogaćenog vlaknima

Ljiljana Nanjara¹

¹Veleučilište "Marko Marulić u Kninu", Kralja Petra Krešimira IV 30, Knin, (ljiljana.nanjara@veleknin.hr

Sažetak: Obogaćivanje bezglutenskog kruha prehrambenim vlaknima je neophodno, obzirom da osobe od celijakije unose nedovoljno vlakana i pod povećanim su rizikom obolijevanja od dijabetesa. U ovom radu ispitati će se mogućnost zamjene dijela rižinog brašna rogačevim brašnom i/ili posijama prosa u količini od 10 % pri izradi bezglutenskog kruha. Rogačevo brašno je odabrano zbog velikog udjela vlakana (33g/100g), mineralnih i bioaktivnih tvari, antioksidacijskog kapaciteta, te sposobnosti smanjenja razine kolesterola i triglicerida u serumu, kao i povoljnog učinka na održanje zdrave tjelesne mase. Iako je sastavni dio Mediteranske prehrane, rogač se rijetko koristi u proizvodnji kruha. Također, do sada nisu ispitane mogućnosti fermentacije rogačevog kiselog tijesta. Stoga je u ovom radu ispitana fermentacija rogačevog kiselog tijesta pomoću starter kultura *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus fermentum* i komercijalnog startera Livendo LV1 (Lesaffre). Nadalje, u ovom radu će se koristiti posije prosa koje su nusproizvod industrijskog procesa ljuštenja prosa pri proizvodnji prosene kaše i brašna, i to frakcija zaostala nakon prosijavanja na situ promjera otvora <500 µm koja sadrži 14% proteina (*in vitro* probavljivosti 76%), 26% škroba, 36% vlakana, također bogata mineralnim i bioaktivnim spojevima. Proizvodi od prosa su poznati po sporijoj probavljivosti škroba i hipoglikemijskom učinku. U prvoj fazi istraživanja će se ispitati optimalna veličina čestica posija prosa i brašna rogača za izradu bezglutenskog kruha. Potom će se ispitati uvjeti enzimske obrade posija prosa i uvjeti kiseljenja rogačevog brašna. Rezultati su pokazali da se dodatkom fermentiranog rogačevog brašna ili posija prosa povećava volumen bezglutenskog kruha, tekstura sredine postaje mekša, a boja tamnija. Takav bezglutenski kruh je dobar izvor vlakana ($\geq 3\text{g}/100\text{g}$), sadrži višestruko povećani udjel polifenolnih spojeva i pokazuje veću antioksidacijsku aktivnost od standardnog bijelog rižinog kruha. Nakon optimiranja recepture bezglutenskog kruha koja će sadržavati rogačevo kiselo tijesto i posije prosa, analizirati će se njegova prehrambena vrijednost, probavljivost proteina i mineralnih tvari, te odrediti glikemijski indeks.

Ključne riječi: bezglutenski kruh, rogačevo kiselo tijesto, posije prosa, prehrambena vrijednost

Primjena visokonaponskoga električnoga pražnjenja na inaktivaciju mikroorganizama

Višnja Stulić¹

¹Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Pierottijeva 6, Zagreb

Sažetak: Cilj rada bio je ispitati utjecaj tretmana plinskom plazmom i tekućinskom plazmom u mjehurićima na inaktivaciju 7 mikroorganizama u stacionarnoj i eksponencijalnoj fazi rasta (*Escherichia coli* MG1655-K12, *Salmonella enterica* serotip Typhimurium LT21, *Listeria innocua* ATCC 33091, *Staphylococcus aureus* 3048, *Bacillus cereus* 30, *Rhodotorula* spp 74 i *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 204508). Analizirani su fizikalno-kemijski parametri, revitalizacija stanica nakon tretmana, istjecanje unutar staničnog sadržaja, odgovor stanica na stres i formiranje biofilma. Dizajniran je eksperiment s tri različite varijable (frekvencija: 60, 90, 120 Hz, vrijeme: 5' i 10', plin: zrak i argon) kako bi se utvrdili optimalni uvjeti tretmana pomoću dva tipa reaktora pri pozitivnom polaritetu i provodljivosti medija od 100 $\mu\text{S cm}^{-1}$. Potpuna inaktivacija u stacionarnoj fazi rasta postignuta je kod oba tipa reaktora te svih mikroorganizama, osim za kvasac *Rhodotorula* spp. U eksponencijalnoj fazi rasta potpuna inaktivacija tretmanom tekućinskom plazmom u mjehurićima u argonu postignuta je kod 4 mikroorganizama: *S. enterica*, *L. innocua*, *S. aureus* i *S. cerevisiae*. Iako su rezultati analize istjecanja staničnog sadržaja pri 260 i 280 nm pokazali istjecanje DNA i proteina, analizom revitalizacije stanica dokazan je oporavak stanica. Tekućinska plazma u mjehurićima pri uvjetima tretmana (90 Hz, 10', argon) pokazala se kao najučinkovitiji tretman te je isti odabran za analizu proteoma odabranih mikroorganizama u stacionarnoj fazi rasta: *E. coli*, *L. innocua* i *S. cerevisiae* i analize transmisijskim elektronskim mikroskopom (TEM). Proteomskim analizama provedenim pomoću MALDI-TOF/TOF MS-a dokazano je stanje stresa tretiranih mikroorganizama nakon jednostrukog tretmana, revitalizacije stanica te trostrukog tretmana istog uzorka. TEM analizom nakon tretmana dokazane su stanice s dezintegriranom membranom. Redukcija biofilma dokazana je nakon oba tretmana, plinskom plazmom i tekućinskom plazmom u mjehurićima.

Ključne riječi: hladna plazma, mikroorganizmi, inaktivacija, revitalizacija, biofilm, odgovor na stres, fizikalno-kemijska svojstva

Zelena otapala za zelene tehnologije

Manuela Panić, Kristina Radošević, Marina Cvjetko Bubalo, Višnja Gaurina Srček, Ivana Radojčić Redovniković

*Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Pierottijeva 6, 10000 Zagreb, Croatia
(mpanic@pbf.hr)*

Sažetak: U mnogim industrijskim procesima primjenjuje se velika količina hlapljivih i zapaljivih organskih otapala, dobivenih iz neobnovljivih sirovina poput nafte, što značajno doprinosi i utječe na ekološke i ekonomske značajke procesa. Tijekom proteklog desetljeća prirodna eutektička otapala (*engl.* Natural deep eutectic solvents, NADES) se intenzivno istražuju s ekološkog, tehnološkog i ekonomskog gledišta kao zelena zamjena za organska otapala. Pripremaju se miješanjem kvaternih soli (npr. kolin-klorid) s donorom vodika (npr. alkohol, organska kiselina, šećer, aminokiselina) u određenom molarnom omjeru, pri čemu nastaje homogena smjesa temeljena na snažnim vodikovim vezama između komponenti. Zelena svojstva ovih otapala su neznatna hlapljivost (smanjenje onečišćenja zraka), nezapaljivost (sigurnost procesa), velika toplinska, kemijska te elektrokemijska stabilnost (mogućnost recikliranja i višestruke upotrebe). Broj mogućih kemijskih struktura prirodnih eutektičkih otapala je iznimno velik stoga se odabirom i selekcijom komponenata može pripremiti otapalo željenih fizikalno-kemijskih svojstava. Zbog navedenih svojstava istražuje se njihova moguća primjena u prehrambenoj, farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji.

Cilj ovog istraživanja bio je ispitati mogućnost primjene prirodnih eutektičkih otapala u (i) ekstrakciji polifenolnih spojeva iz komine grožđa i (ii) u sintezi kiralnih građevnih blokova koristeći cijele stanice i izolirani enzim kao biokatalizatore. Rezultati ukazuju da je NADES obećavajuće otapalo za zelenu ekstrakciju i biokatalizu.

Ključne riječi: prirodna eutektička otapala, stereoselektivna biokataliza, zelene ekstrakcije, zelene tehnologije

Homogenizacija visokim tlakom kao metoda za ekstrakciju bioaktivnih spojeva iz otpada rajčice

Slaven Jurić^{1,2}, Francesco Donsi³

¹Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Pierottijeva 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

²Agronomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zavod za kemiju, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska

³Zavod za industrijsko inženjerstvo, Sveučilište u Salernu, via Giovanni Paolo II 132, 84084 Fisciano, Italija

Sažetak: Industrijskom preradom rajčice nastaje značajna količina otpada koji uglavnom čini pokožica rajčice. Pokožica rajčice je izuzetno bogata bioaktivnim spojevima, čije iskorištenje može donijeti značajne ekonomske i ekološke prednosti. S obzirom na to, istražena je metoda homogenizacije visokim tlakom (HPH, *engl. High-pressure homogenization*) (1-10 prolaza pri 100 MPa), u usporedbi s visokosmicajnom homogenizacijom (HSM, *engl. High-shear mixing*) (5 min pri 20 000 rpm) koristeći samo vodu kao procesni medij. Takve metode se mogu primijeniti kao alati za oslobađanje unutarstaničnog materijala biljnih stanica, poput stanica svježe pokožice rajčice. Rezultati pokazuju da se povećanjem broja prolaza HPH povećava udio uništenih stanica, uzrokujući tako povećano oslobađanje unutarstaničnih spojeva u vodeni medij. U usporedbi s HSM, HPH metoda je pri optimalnim uvjetima povećala udio polifenola (+28,7%), antioksidacijsku aktivnost (+21,4%), ukupne proteine (+66,6%), ukupne šećere (+4,1%) i likopen (+46,4%) u vodenom supernatantu. Međutim, prekomjerna obrada (>5 prolaza HPH) uzrokovala je djelomičnu degradaciju termolabilnih spojeva, kao što je likopen, koji je nakon 10 prolaza smanjen za 23% u odnosu na optimalne uvjete (5 prolaza). Zanimljivo, u vodenoj fazi su se oslobodili, ne samo spojevi topljivi u vodi već i hidrofobne molekule, među kojima je najzastupljeniji likopen, i to u značajnoj koncentraciji iznad njegove topljivosti u vodi. To sugerira da HPH može otvoriti biljne stanice i tako osloboditi likopen u kompleksiranom obliku koji je topljiv u vodi. Osim toga, HPH omogućuje mikronizaciju pokožice rajčice do takve veličine da pojedinačne čestice nisu vidljive golim okom, što upućuje na to da se takva suspenzija može upotrijebiti u procesu prerade rajčice te dodatno prirodno obogatiti krajnji proizvod s visoko biodostupnim karotenoidima, proteinima, šećerima i vlaknima.

Ključne riječi: homogenizacija visokim tlakom, pokožica rajčice, likopen, bioaktivni spojevi, funkcionalna hrana

Metode određivanja potencijalnog antioksidativnog kapaciteta morskih i slatkovodnih mikroalgi

Denis Vadjla¹

¹Laboratorij za biotehnologiju u akvakulturi, Institut Ruđer Bošković, Bijenička cesta 54, Zagreb, Republika Hrvatska (Denis.Vadjla@irb.hr)

Sažetak: Antioksidansi su spojevi koji mogu inhibirati ili odgoditi oksidaciju, kemijsku reakciju kojom nastale reaktivne molekule, slobodni radikali, mogu uzrokovati oštećenja stanica što posljedično dovodi do nastanka mnogih bolesti. Kako bi zaštitile stanicu od oštećenja, morske i slatkovodne mikroalge razvile su antioksidativne mehanizme obrane. Kao obećavajući izvor prirodnih antioksidansa, pažnju su privukle u potencijalu zamjene sintetskih antioksidansa s ciljem primjene u prehrambenoj i kemijskoj industriji.

Cilj ovog istraživanja bilo je određivanje potencijalnog antioksidativnog kapaciteta u mikroalgama korištenjem dvije elektrokemijske i dvije spektrofotometrijske metode kako bi se utvrdilo slaganje i sukladnost rezultata. Istraživanja su provedena na morskoj mikroalgi *Dunaliella tertiolecta* i slatkovodnoj mikroalgi *Chlorella vulgaris*. Elektrokemijska metoda voltametrije imobiliziranih mikrokristala omogućila je određivanje elektroaktivnih spojeva u čvrstom stanju bez prethodne pripreme uzoraka. Za drugu korištenu tehniku, voltometriju precipitiranog mikrofilma, bilo je potrebno provesti ekstrakciju uzoraka. Ovako pripremljeni uzorci za obje metode nanose se na površinu parafinom impregnirane grafitne elektrode (PIGE) i uranjaju u vodenu otopinu elektrolita, 0,1 M PBS. Provedene su ciklička i pravokutno-valna voltometrija mijenjajući eksperimentalne uvjete, brzinu promjene potencijala i frekvenciju. Osim toga, promjena pH-vrijednosti elektrolita dala je uvid u elektrokemijski mehanizam oksidacije ispitivanih uzoraka. Rezultati dobiveni elektrokemijskim metodama uspoređeni su s rezultatima dviju spektrofotometrijskih metoda. U ekstraktima mikroalgi udio ukupnih fenola određen je Folin-Ciocalteu metodom, a antioksidativna aktivnost β -karoten-linoleat metodom.

Za testirane mikroalge dobiveni su različiti rezultati koji odgovaraju njihovom različitom antioksidativnom kapacitetu. Istraživanja će se proširiti i na druge mikroalge izolirane iz Jadranskog mora kako bi se dobio bolji uvid u njihov antioksidativni kapacitet.

Ključne riječi: Mikroalge, *Dunaliella tertiolecta*, *Chlorella vulgaris*, antioksidativni kapacitet, voltometrija

Razvoj bezglutenskog kruha poboljšane arome, povećane prehrambene vrijednosti i produljene trajnosti

Saša Drakula¹

¹Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Pierottijeva 6, Zagreb

Sažetak: Mnoge bezglutenske kruhove prisutne na tržištu karakteriziraju slabo izražen okus, aroma i boja te loša kvaliteta radi prisutnosti strane arome, suhe, mrvljive teksture i brzog starenja. Dosadašnja istraživanja su pokazala da dodatak brašna mahunarki i kiselog tijesta u proizvodnji bezglutenskih proizvoda može utjecati na poboljšanje njihove kvalitete. Mahunarke imaju potencijal poboljšati prehrambenu vrijednost kruha, dok kiselo tijesto može poboljšati volumen, teksturu, aromu, prehrambenu vrijednost, probavljivost kruha te produljiti njegovu trajnost. S obzirom na navedene pozitivne utjecaje, veliki potencijal leži u njihovoj primjeni u proizvodnji bezglutenskog kruha povećane kvalitete i prihvatljivosti. Stoga je cilj ovog rada ispitati utjecaj dodatka brašna žutog graška, kiselog tijesta pripremljenog s 3 različita soja bakterija mliječne kiseline (*Lactobacillus brevis* 20054, *Lactobacillus fermentum* 20052, *Lactobacillus reuteri* 20016) te prekursora aromatskih spojeva i enzima na prehrambenu vrijednost, aromatski profil, strukturu i trajnost bezglutenskog kruha.

Ključne riječi: bezglutenski kruh, brašno žutog graška, kiselo tijesto, aromatski profil, kvaliteta

Ultrazvukom potpomognuto vakuum sušenje u prehrambenoj industriji

Marko Marelja¹, Mladen Brnčić¹

¹*Prehrambeno-biotehnološki fakultet; Sveučilište u Zagrebu; Pierottijeva 6; Zagreb*

Sažetak: Sušenje prehrambenih proizvoda jedan je od najstarijih i najzastupljenijih načina konzerviranja namirnica. Trenutno se u prehrambenoj industriji najviše koristi konvekcijsko sušenje. Sušenje konvekcijom podrazumjeva sušenje u struji vrućeg i vlagom nezasićenog zraka. Nedostatci konvekcijskog sušenja su visok utrošak energije, moguće nepoželjne promjene u strukturi i senzorskim svojstvima proizvoda, te gubici hranjivih sastojaka.

Predloženo istraživanje temeljiti će se na primjeni ultrazvuka kao predtretmana sušenju i usporedbi sušenja kondukcijom ili kontaktnim sušenjem i sušenja pod vakuumom. Prednosti vakuum sušenja su niže temperature sušenja što rezultira manjom toplinskom degradacijom hranjivih sastojaka, zatim uspješnijom kontinuiranom difuzijom i isparavanjem vode te smanjenom oksidacijom osušenog proizvoda.

Nadalje vezano uz primjenu ultrazvuka određenih parametara frekvencije i amplitude kao predtretmana sušenju preliminarna istraživanja pokazala su značajan utjecaj ove ne-toplinske tehnologije na povećanje učinka sušenja, skraćivanje vremena sušenja, očuvanje boje te pozitivan utjecaj na teksturalna svojstva prilikom sušenja voća.

Ovo je usko vezano uz mehanizam kavitacije kojeg stvara ultrazvuk visokih snaga u tekućem mediju te značajno utječe na strukturu unutar sirovine prije sušenja.

Cilj daljnjeg istraživanja je optimiziranje procesnih parametara ultrazvuka i kondukcijskog vakuum sušenja za razne vrste voća uz praćenje fizikalno-kemijskih i organoleptičkih svojstava.

Ključne riječi: kondukcija, vakuum sušenje, ultrazvuk, voće.

Primjena visokog hidrostatskog tlaka za produljenje trajnosti sokova od voća i povrća

Marko Škegro*, Sven Karlović, Damir Ježek, Filip Dujmić, Marko Marelja, Mladen Brnčić, Tomislav Bosiljkov

Prehrambeno biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Pierottijeva 6, Zagreb, Hrvatska

Sažetak: Netermalni proces obrade visokim hidrostatskim tlakom, koristi se za inaktivaciju mikroorganizama uz minimalnu promjenu same namirnice. Zadovoljavaju se zahtjevi potrošača za svježim i minimalno procesiranim proizvodima uz kraće vrijeme obrade za razliku od konvencionalnih tehnika te se postiže jednaki standard sigurnosti hrane kao kod toplinske pasterizacije. U novijim istraživanjima, visoki tlak se smatra zaslužnim za promjene u strukturi stanice i biopolimera u stanicama obrađivanih namirnica što rezultira boljem vezivanju vode, procesima želiranja te nastanku novih tekstura i proizvoda. Ovaj rad prezentira upotrebu visokog hidrostatskog tlaka kod procesiranja voća i povrća, crvenog mesa i mesnih preradevina, te utjecaj obrade na mikroorganizme u namirnici.

Ključne riječi: visoki hidrostatski tlak, netermalna pasterizacija, mikrobiološka sigurnost

Konstrukcija biotehnološki zanimljivih sojeva kvasca *Dekkera bruxellensis*

Bojan Žunar*, Ivan-Krešimir Svetec*

**Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zavod za biokemijsko inženjerstvo, Laboratorij za biologiju i genetiku mikroorganizama*

Sažetak: U tradicionalnoj biotehnologiji kvasac *Dekkera (Brettanomyces) bruxellensis* uzrokuje velike ekonomske gubitke kvareći vino i pivo. S druge strane, zbog iznimne sposobnosti fermentacije i otpornosti na nepovoljne uvjete, ovaj kvasac je u protekla dva desetljeća uspješno korišten za proizvodnju bioetanola. Međutim, proizvodne sojeve kvasca *D. bruxellensis* teško je unaprijediti jer dosad nije bio razvijen protokol za njihovu genetičku transformaciju, tj. protokol za unos strane DNA u njihove stanice. U sklopu mojeg doktorskog rada razvijen je upravo takav protokol, određeno je koliko često se unesena molekula DNA ugrađuje na ciljano mjesto u genomu te je konstruiran soj u kojem je učestalost takvog genetičkog ciljanja veća nego u izvornom soju. Kombinacijom navedenih spoznaja i metaboličkog inženjerstva konstruiran je i soj kvasca *D. bruxellensis* koji metabolizira ksilozu, šećer koji je obilno prisutan u lignoceluloznim hidrolizatima korištenim za proizvodnju bioetanola druge generacije, a koji divlji tip kvasca *D. bruxellensis* ne može metabolizirati. Navedena istraživanja otvaraju vrata unaprjeđenju postojećih, ali i razvoju novih bioprocesa temeljenih na kvascu *D. bruxellensis*.

Ključne riječi: *Dekkera bruxellensis*, genetička transformacija, ciljanje gena, metaboličko inženjerstvo